



TITLE:

Activation of Toxin-Antitoxin System Toxins Suppresses Lethality Caused by the Loss of  $\sigma^E$  in *Escherichia coli*( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Daimon, Yasushi

---

CITATION:

Daimon, Yasushi. Activation of Toxin-Antitoxin System Toxins Suppresses Lethality Caused by the Loss of  $\sigma^E$  in *Escherichia coli*. 京都大学, 2016, 博士(医科学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19631>

RIGHT:

京都大学	博士（医科学）	氏 名	大 門 康 志
論文題目	Activation of Toxin-Antitoxin System Toxins Suppresses Lethality Caused by the Loss of $\sigma^E$ in <i>Escherichia coli</i> . (大腸菌におけるトキシン-アンチトキシン システムのトキシンの活性化は、シグマEの欠損による致死性を抑圧する)		
<p>グラム陰性細菌の表層にある外膜は、化学物質や栄養素の選択的透過や薬剤の排出などの重要な機能を持つ。環境変化等により生じる表層ストレスは、異常な生体分子の蓄積を引き起こし、外膜機能を損なう。<math>\sigma^E</math>依存的表層ストレス応答は、主として外膜で生じた異常を感知し、そのシグナルを細胞質に伝達して表層機能維持に働く因子の発現を誘導する機構である。グラム陰性菌は複数の表層ストレス応答経路を持つが、<math>\sigma^E</math>経路は唯一生育に必須であり、また、病原細菌のビルレンスに関与することも知られている。</p> <p><math>\sigma^E</math>は、大腸菌RNAポリメラーゼの交換可能な転写因子である<math>\sigma</math>因子の一つである。表層ストレスの低い生育条件でも<math>\sigma^E</math>を欠く大腸菌は生育できないが、<math>\sigma^E</math>の表層ストレス応答以外の役割は解明されていない。これまでに、<i>hicB</i>遺伝子の欠失株では、<math>\sigma^E</math>を欠損しても生育できることが報告されている。その後の解析により、<i>hicB</i>は、大腸菌が自己の細胞内で発現するトキシンとアンチトキシンのペア (TAシステム)の一つであるHicA-HicBのアンチトキシンHicBをコードしていること、HicAはmRNA切断酵素 (RNase) 活性を持つトキシンであることが示された。TAシステムにおいては、トキシンは、通常アンチトキシンにより不活化されているが、栄養飢餓や抗生物質の曝露など様々なストレスにより活性化され、トキシンを産生する細菌自身の細胞機能を阻害することにより栄養飢餓や抗生物質に対する耐性を付与する。しかし、<math>\sigma^E</math>欠損による致死性をTAシステムがどのようにして抑圧するのかは、今まで明らかにされていない。</p> <p>同時形質導入法を用いて <math>\sigma^E</math> 欠損による致死性を検討したところ、<i>hicA</i> を同時に欠失すると <i>hicB</i> を欠失しても <math>\sigma^E</math> を欠損した大腸菌は生育できなかったが、この二重欠失株で野生型の HicA を過剰発現すると <math>\sigma^E</math> を欠損しても生育できるようになった。この結果は、<i>hicB</i> 欠失によって <math>\sigma^E</math> 欠損大腸菌が生育できるのは、<i>hicA</i> が活性化されるためであることを示す。次に、HicA の有する RNase 活性がこの効果に必要なかどうかを検討した。その結果、RNase 活性を欠く HicA 変異体には <math>\sigma^E</math> 欠損株を生育させる効果はなかった。また、TA システムに属する他のトキシン (HigB、YafQ) の過剰発現によっても同じ効果を認めたが、RNase 活性を欠く YafQ 変異体の過剰発現では効果がなかった。これらの結果は、<math>\sigma^E</math> 欠損による致死性を抑圧する効果は、これらの RNase トキシンに共通した性質の一つであることを示唆する。次に、トキシンを活性化する抗生物質の効果を検討した。その結果、翻訳阻害剤などの抗生物質の中には、培地中に低濃度で添加すると <math>\sigma^E</math> 欠損株を生育させることができるものがあった。また、この効果は、トキシンの活性化に必要なプロテアーゼに依存した。これらの結果も、トキシンの活性化により <math>\sigma^E</math> 欠損による致死性が抑圧されることと合致する。</p> <p>以上のように、トキシンや抗生物質によって <math>\sigma^E</math> を欠損した大腸菌が生育できることが示されたが、すべての RNase トキシンや翻訳阻害剤にこの効果があるわけではなく、単に翻訳阻害によるタンパク質合成のグローバルな抑制によるものではないと</p>			

<p>考えられる。また、レポーターアッセイの結果、<math>\sigma^E</math> 依存的表層ストレス応答経路の活性は、トキシンの過剰発現により低下することが判明しており、表層ストレスの低減が <math>\sigma^E</math> 欠損による致死性の抑圧に寄与している可能性もある。</p> <p>これらの結果から、活性化されたトキシンが、特定の遺伝子の転写産物を切断し、その発現を選択的に低下させることで表層ストレスに対する耐性を与える機構が存在すると考えられる。本研究結果は、大腸菌の生育における <math>\sigma^E</math> の役割や、表層ストレス応答における TA システムの生理的役割の解明のための極めて重要な情報となる。</p> <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>大腸菌の転写因子 <math>\sigma^E</math> は、表層ストレス応答 (<math>\sigma^E</math> 経路) で働き、生育に必須の役割をもつ。<math>\sigma^E</math> の必須性は <i>hicB</i> 遺伝子の欠失により抑圧されることが知られていたが、その機構は明らかでない。<i>hicB</i> はトキシン・アンチトキシン (TA) システムのアンチトキシンをコードする。TA システムのトキシンは、細菌が栄養飢餓や抗生物質への曝露など様々なストレスに晒されると活性化され、トキシンを生産する細菌自身の増殖を抑制する。本論文では、<math>\sigma^E</math> 機能と TA システムの関係について解析した。</p> <p><i>hicB</i> 欠失による <math>\sigma^E</math> の必須性の抑圧には、HicB が作用するトキシンである HicA が必要であった。また、HicA に加え、他の TA システムのトキシン HigB や YafQ の過剰発現によっても <math>\sigma^E</math> の必須性は抑圧された。これらの効果は、それらトキシンの RNA 切断活性に依存していた。さらにトキシンを活性化する抗生物質などの薬剤の添加により、<math>\sigma^E</math> 必須性の抑圧効果が見られた。以上の結果に基づき、TA システムのトキシンには、ターゲットとなる何らかの RNA の切断を通じて <math>\sigma^E</math> の必須性を抑圧する働きがあると結論した。</p> <p>以上の研究結果は、表層ストレス応答における TA システムの関わりについて新知見を与えるものであり、表層ストレス応答は細菌の病原性の発現等にも関わるため、細菌感染症学へも寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成28年1月22日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------